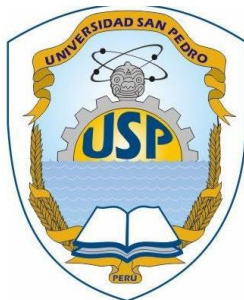


UNIVERSIDAD SAN PEDRO
FACULTAD DE MEDICINA HUMANA
ESCUELA DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE QUÍMICO
FARMACÉUTICO

Efecto cicatrizante del extracto etanólico de las hojas de
Annona muricata* L. sobre heridas superficiales en *Mus
musculus var. albinus.

AUTOR: JOSÉ DANIEL ARENAS DULCE
ASESOR: Mg. CISNEROS HILARIO CÉSAR BRAULIO

Chimbote – Perú
2018

DEDICATORIA

Dedico esta tesis principalmente a Dios, por haberme dado la vida, asimismo el amor y la ayuda de mi apreciada madre, que fue la persona que me educo, me enseñó y guio mis pasos para llegar a este momento tan importante de mi formación profesional.

A mis hermanos Luis, Haydee, Marcos y Milton, que han depositado toda su confianza y sueños en mí, para la obtención de mi título profesional, ya que en todo momento estuvieron incentivándome a seguir adelante y poderle dar un gran ejemplo a los más pequeños, significando un gran orgullo para ellos.

Dedico esta tesis también A toda mi familia en general, quienes por ellos soy lo que soy, dándome su apoyo, comprensión, ayuda, consejos y amor. Por demostrarme siempre su cariño y apoyo incondicional.

No quiero finalizar esta dedicatoria sin antes mencionar una frase que compuse creyendo en los más pequeños. “No quiero morir sin antes haber dado todo de mí, para que aquellos que necesitan hoy puedan crecer mañana”.

Arenas Dulce José Daniel

AGRADECIMIENTO

A Dios por darme el conocimiento y permitir el desarrollo de esta investigación de manera exitosa y al apoyo de personas que de una u otra manera han hecho posible su culminación.

Q. F. CISNEROS HILARIO CÉSAR BRAULIO, docente de la Escuela de Farmacia y Bioquímica, un agradecimiento especial por su permanente asesoría, apoyo, consejo y entusiasmo. Gracias por su tiempo y dedicación para la realización de esta investigación.

A la Escuela de Farmacia y Bioquímica de la Universidad San Pedro, por permitirnos el acceso para la ejecución de nuestra tesis.

A todos los docentes de la Escuela Académica Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad San Pedro, por haber contribuido con sus conocimientos y experiencias a lo largo de nuestra formación profesional.

A toda nuestra familia, por habernos dado todo su apoyo y consejos en los momentos que lo necesitábamos.

DERECHO DE AUTORIA

Yo, José Daniel Arenas Dulce, autor de la Tesis Titulada “**Efecto cicatrizante del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* L. sobre heridas superficiales en *Mus musculus* var. *albinus***”, soy el responsable del contenido y resultado expuestos en esta tesis.

De esta manera manifiesto que el patrimonio intelectual de dicha tesis es para obtener el Título de Químico Farmacéutico de esta Escuela Académica Profesional de Farmacia y Bioquímica, la cual pertenece a la Facultad de Medicina Humana de la Universidad San Pedro.

PRESENTACION

“Año del Diálogo y Reconciliación Nacional”

Chimbote, Julio del 2018

SEÑORES MIEMBROS DEL JURADO

De conformidad con los requisitos estipulados en el Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad San Pedro es grato para mi presentarles mi Tesis Titulada:
“Efecto cicatrizante del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* L. sobre heridas superficiales en *Mus musculus* var. *albinus*”.

A la vez quiero expresar mi agradecimiento por su apoyo, orientación y tiempo durante el periodo de elaboración y aprobación de mi tesis.

Atentamente

Arenas Dulce José Daniel

BACHILLER EN FARMACIA Y BIOQUÍMICA

Efecto cicatrizante del extracto etanólico de las hojas de
Annona muricata* L. sobre heridas superficiales en *Mus
***musculus var. albinus*.**

Palabras clave: Actividad cicatrizante, extracto, *Annona muricata*, *Mus musculus*.

Key words: Healing activity, extract, *Annona muricata*, *Mus musculus*.

Línea de Investigación: Este presente proyecto de investigación sigue el siguiente código del plan nacional correspondiéndole la siguiente codificación: **04050302** (Química de los productos naturales).

RESUMEN

El presente proyecto tuvo como objetivo evaluar el efecto cicatrizante *in vivo* del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* L. sobre heridas superficiales en *Mus musculus* var. *albinus*, el estudio fue de tipo analítico, experimental, pre-clínico y desarrolló en los Laboratorios de farmacología y fitoquímica, de la Facultad de Medicina Humana, de la Universidad San Pedro. La población estuvo conformada por ratones albinos y la muestra por 36 ratones *mus musculus* var. *albinus*, Cepa Balb/C-54, con pesos entre 25 ± 5 g, divididos en seis grupos de seis ratones cada grupo donde el primero recibió SSF 2 mL/Kg, el 2° sangre de grado, 3° cicatricure y los grupos 4°, 5° y 6° extracto de guanábana en concentraciones de 10, 50 y 100% respectivamente, se siguió el método de test de cicatrización, según Villegas L, 1997, los ratones fueron aclimatados y se depilaron los lomos 24h antes de iniciada la experimentación, donde se realizaron dos cortes de 1 cm en la región escapular, se aplicaron los tratamientos por vía tópica diariamente, por un período de 07 días, al octavo día los ratones fueron sacrificados y se midió la fuerza de tensión con un dinamómetro, los datos encontrados fueron sometidos al análisis estadístico descriptivo y análisis de varianza utilizándose el programa SPSS ($p < 0,05$). Se concluyó que el extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* L “guanábana” posee efecto cicatrizante sobre heridas superficiales en *Mus musculus* var. *albinus*.

Palabras clave: Actividad cicatrizante, extracto, *Annona muricata*, *Mus musculus*.

ABSTRACT

The objective of this project was to evaluate the in vivo healing effect of the ethanolic extract of the leaves of *Annona muricata* L. on superficial wounds in *Mus musculus* var. *albinus*, the study was analytical, experimental, pre-clinical and developed in the pharmacology and phytochemical laboratories of the Faculty of Human Medicine, San Pedro University. The population consisted of albino mice and the sample was 36 *mus musculus* var. *albinus*, Cepa Balb / C-54, with weights between 25 ± 5 g, divided into six groups of six mice each group where the first received SSF 2 mL / Kg, the 2nd blood grade, 3rd cicatricure and groups 4 °, 5 ° and 6 ° soursop extract in concentrations of 10, 50 and 100% respectively, the method of healing test was followed, according to Villegas L, 1997, the mice were acclimated and the loins were shaved 24h before the experimentation began , where two 1 cm cuts were made in the scapular region, the treatments were applied topically daily, for a period of 07 days, on the eighth day the mice were sacrificed and the tensile force was measured with a dynamometer, the data were subjected to descriptive statistical analysis and analysis of variance using the SPSS program ($p < 0.05$). It was concluded that the ethanolic extract of the leaves of *Annona muricata* L "guanábana" has healing effect on superficial wounds in *Mus musculus* var. *albinus*.

Key words: Healing activity, extract, *Annona muricata*, *Mus musculus*.

INDICE

Pagina

DEDICATORIA.....	I
AGRADECIMIENTO.....	II
DERECHO DE AUTORIA.....	III
PRESENTACION.....	IV
TÍTULO.....	V
PALABRAS CLAVE Y LINEA DE INVESTIGACIÓN.....	VI
RESUMEN.....	VII
ABSTRACT.....	VIII
INDICE	IX
I. INTRODUCCIÓN.	1
1.1. Antecedentes y fundamentación científica.	1
1.2. Justificación de la investigación.	3
1.3. Problema.	5
1.4. Marco conceptual.	5
1.4.1. <i>Annona muricata</i> L. (guanábana).	7
1.4.1.1. Clasificación taxonómica.....	7
1.4.1.2. Descripción botánica.	8

1.4.1.3. Hábitat y distribución.	9
1.4.1.4. Bioagricultura.	10
1.4.1.5. Estudio de la cicatrización.	11
1.5. Hipótesis y verificación de las variables.	13
1.6. Objetivos.	14
II. METODOLOGÍA.	15
2.1. Tipo y diseño de la investigación.	15
2.2. Población y muestra.	16
2.3. Procedimiento experimental.	16
2.3.1. Técnicas e instrumentos de investigación.	16
2.3.1.1. Recolección, selección, secado de las muestras vegetales, obtención del extracto etanólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> L. y estudio fitoquímico. ...	16
2.3.1.1.1. Colecta de la planta.	16
2.3.1.1.2. Obtención del extracto.	17
2.3.1.1.3. Estudio fitoquímico.	18
2.3.2. Determinación del efecto cicatrizante del extracto etanólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> L.	18
2.3.2.1. Inducción experimental de las heridas superficiales para evaluar el efecto cicatrizante del extracto etanólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> L. en ratones albinos.	18

2.3.2.2. Procesamiento y análisis de la información.	20
III. RESULTADOS.	21
IV. DISCUSION.	24
V. CONCLUSIONES.	28
VI. RECOMENDACIONES.	29
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.	30
ANEXOS APÉNDICES.	35

I. INTRODUCCIÓN.

1.1. ANTECEDENTES Y FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICA.

En muchos sistemas de salud de América, Asia y Europa; es frecuente el uso de drogas vegetales y fitomedicinas, como parte integral de la medicina convencional. En estos casos, basándose en la información médica tradicional, ha sido posible para la medicina científica validar la acción terapéutica y establecer los correctos usos de los recursos vegetales. La medicina tradicional, es utilizada ampliamente y desde tiempos ancestrales en nuestro país. El conocimiento sobre salud, enfermedad, prevención y tratamiento; ha sido transmitido de una generación a otra; a través del tiempo. (Guillermo, 2002).

Actualmente dada la importancia y el redescubrimiento de la medicina alternativa llamada a una de sus ramas Medicina Tradicional, la cual ha servido por muchas generaciones al alivio de un sin número de enfermedades, nuestro país no está ajeno a estos procedimientos, por el contrario posee diversidad de plantas medicinales, debido a los diferentes ecosistemas en las regiones naturales del Perú, donde existe una gran biodiversidad de la flora y puede ser la fuente para el tratamiento de diversas enfermedades. El Perú como país del tercer mundo tiene todavía mucho por hacer, como

elevar el nivel de vida de los pobres, disminuir la desnutrición infantil y aminorar diversas afecciones. (Silva, 1995).

Dentro de los grandes avances tecnológicos que se han hecho en la actualidad en medicina, los principales apuntan al manejo y tratamiento de las heridas. Al punto que hoy se conoce como “manejo avanzado de heridas”, no por el hecho de cómo se tratan, sino con que sustancias se realizan dichas curaciones (Arroyo, 2005).

Las heridas acompañan al hombre desde el inicio de su historia, y de acuerdo con el papiro de Smith, los datos más antiguos de la intervención del hombre en el curso de las heridas datan de aproximadamente 5000 años A. C (Ramírez, 2006).

Desde los últimos siglos, ha habido un interés creciente en el uso de varias hierbas medicinales en diferentes formas para el tratamiento de la herida, por separado o en combinación, tales como: jugo, cocción y el ungüento en vehículos diferentes. Por lo tanto, en este contexto, La planta de *Annona muricata*, fue seleccionada para el estudio de la actividad de la cicatrización de heridas, ya que encuentra una variedad de usos medicinales en el tradicional sistema de Medicamento (Padma, 2009).

Las acetogeninas de las anonáceas son sustancias cerosas que resultan de la combinación de ácidos grasos de cadena larga (C_{32} ó C_{34}) con una unidad de 2- propanol en el carbono 2 para formar una lactona. La droga vegetal utiliza con dicho fin las hojas de guanábana, más conocidas como graviola. Las propiedades de la graviola han sido estudiadas no solo en el tratamiento del cáncer, sino también en otras enfermedades, ya que además de los beneficios de las hojas, tanto la corteza, flores, frutos y semillas han demostrado poseer propiedades en el tratamiento de diversos trastornos (Nayak, 2007).

1.2. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

Este trabajo permitirá demostrar la efectividad que también tienen las hojas de *Annona muricata* L. (guanábana) y de allí su importancia para poderlas estudiar; a la misma vez hacer de conocimiento a la población para que pueda utilizarla en heridas superficiales ya que esta planta muestra una riqueza en principios activos y una amplia actividad terapéutica.

El Perú, considerado el tercer país más mega diverso del planeta, ha efectuado importantes aportes de especies y variedades para el mundo gracias a los diversos pisos ecológicos y microclimas que presenta, contando con 84 zonas de vida de las 103 conocidas donde habría 50 mil especies vegetales (20% de las existentes en la Tierra) de las que 2,000 han sido utilizadas con fines curativos. Actualmente, esta riqueza de promisorios

agentes terapéuticos vegetales aunada al conocimiento ancestral de su uso etnofarmacológico, constituye un valioso recurso por explotar adecuadamente mediante el desarrollo sostenible en beneficio de la humanidad y, especialmente, de las comunidades nativas que han preservado estos recursos hasta nuestros días (Li, 2010).

La OMS considera esencial separar el mito de la realidad, que están estrechamente relacionados en medicina tradicional, ser capaces de distinguir las prácticas y los remedios válidos de los ineficaces o peligrosos, promoviendo esta actividad mediante métodos adecuados que garanticen los principios de seguridad, eficacia y calidad. Si bien es cierto que la extracción, el aislamiento e identificación de los constituyentes químicos de origen vegetal, se ha efectuado en años relativamente recientes, el propósito para el cual estas sustancias medicinales se emplean hoy es el mismo que le dieron nuestros antecesores en su momento histórico; salvo que ya se está en condiciones de aprovechar el acelerado desarrollo de la fitoquímica para sustentar científicamente las investigaciones en plantas, para velar por la seguridad de los preparados medicinales se establecen regulaciones internacionales, que exigen amplias investigaciones fármaco-toxicológicas en animales de experimentación antes de iniciar su aplicación en seres humanos (Pérez, 2007).

Es así que a los profesionales de la salud y más aún a los Químicos Farmacéuticos nos toca el deber de contribuir con nuestros conocimientos científicos y hacer extensivo las propiedades de nuestras especies que pueden abarcar el mercado interno y el externo. La posibilidad de industrialización de nuestros recursos naturales, terapéuticos, es una línea promisorio que tendría sustento siempre y cuando corroboremos su eficacia, primero con la identificación de sus componentes y posteriormente su aplicación en personas (Silva, 1995).

1.3. PROBLEMA:

-¿El extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* L. tendrá efecto cicatrizante sobre heridas superficiales en *Mus musculus* var. *Albinus*?

1.4. MARCO CONCEPTUAL:

Las heridas fueron probablemente el primer problema médico que enfrentó la raza humana (Padma, 2009). Dentro de los grandes avances tecnológicos que se han hecho en la actualidad en medicina, los principales apuntan al manejo y tratamiento de las heridas. Al punto que hoy se conoce como “manejo avanzado de heridas”, no por el hecho de cómo se tratan, sino con qué se hace (Salem, 2000).

Desde el inicio de la historia, y de acuerdo con el papiro de Smith, los datos más antiguos de la intervención del hombre en el curso de las heridas datan

de aproximadamente 5000 años A. C. Según este papiro, el sanador egipcio, aplicaba curaciones compuestas de grasa animal, miel y fibras de algodón. Sin saberlo, estaba aplicando una curación no adherente, antibacteriana, osmótico, enzimática y finalmente absorbente de exudado. A partir del año 2000 comienza una tendencia mundial destinada al conocimiento de la fisiopatología e inmunología involucrada en los eventos celulares y humorales de las heridas, surge aquí el concepto de manejo avanzado de las heridas (Ramírez, 2006).

Desde la antigüedad el ser humano, en su larga lucha contra las fuerzas de la naturaleza, ha encontrado en las plantas, un fiel aliado para el alivio, curación y hasta prevención de sus dolencias (Álvarez, 1999).

Por esto, los pueblos, desde el más primitivo, hasta el más avanzado, han atribuido poderes medicinales a ciertas plantas, haciendo que la medicina y el uso de plantas medicinales sean inseparables, muchas de las hierbas, frutos y árboles utilizados desde hace siglos por nuestros antepasados, han sido la base de la industria farmacéutica (Álvarez, 1999).

El uso medicinal de las plantas nunca ha perdido vigencia, en muchos sectores de la población su uso continúa sin cambios significativos. En otros sectores más evolucionados, se utilizan siguiendo la disciplina científica, tal es el caso de la fitoterapia (uso terapéutico de las plantas) (Álvarez, 1999).

Se le atribuye muchas propiedades terapéuticas, destacando en la actualidad su efecto anticancerígeno (citostático y citotóxico), además es utilizado de manera etnobotánica como antiulceroso y heridas en la piel, entre otros (Rengifo, 2006).

Se han determinado principios activos en las hojas de *Annona muricata* entre ellos tenemos alcaloides. La planta de *Annona muricata* fue seleccionado para el estudio de la actividad de cicatrización de heridas, ya que se cuenta con una variedad de usos medicinales en el tradicional sistema de Medicamento (Padma, 2009).

1.4.1. ANNONA MURICATA L. (GUANABANA):

1.4.1.1. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA (Amaya y Roldan 1990).

Reino: Plantae

División: Angiospermae

Clase: Magnoliopsida

Orden: Magnoliales

Familia: Anonaceae

Género: Annona

Especies: Annona muricata L.

Nombre vulgar: La *Annona muricata* L. comúnmente conocida como la guanábana, también conocido en diferentes lugares y con distintos nombres tales como: Guanábana(Perú); Guanábana, catoche (Venezuela); Zapote Agrio (México); Cabeza de negro o Guanábana (Cuba, Puerto Rico); Soursop (Antillas Inglesas); Annona de puntita, Annona de broquet, Guanábano, Corassolier, Jaca de pará (Álvarez, 1999; Solís, 2010).

1.4.1.2. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA:

Annona se refiere a cosecha anual y muricata a la forma escamosa o erizada de sus frutos. (Álvarez, 1999).

Árbol pequeño, hasta de ocho metros de altura, con ramitas rojizo-seríceas. Hojas oblongo-elípticas angostamente abovadas, de 18 x 7 centímetros. Flores verdes solitarias, en pedicelos rojizo-seríceos de 1,5-2 centímetros de largo, los sépalos de 4 x 3 centímetros, pétalos externos cordados en la base, ovadoredondeados y abruptamente cuspidados, 2,5-3,5 centímetros de largo. (Rengifo, 2006).

El fruto es un sincarpo, de forma acorazonada u ovoide, con pericarpio (cáscara) verdoso con tubérculos espiniformes carnosos, la pulpa es blanca y jugosa de sabor agridulce, tiene numerosas semillas color pardo olivo a gris oscuro, oblongo aovadas; el sabor del fruto es suave y dulce; el peso de cada

fruto varía entre 300 a 1,300 g y mide entre 10 a 14 cm de altura y 6 a 16 cm de diámetro. (Amaya y Roldan, 1990).

1.4.1.3. HÁBITAT Y DISTRIBUCIÓN:

La *Annona muricata* L. está ampliamente difundida en todos los trópicos. Este Frutal es originario de América del sur, posiblemente de Colombia, ya que es donde se encuentra el mayor número de especies de Anonáceas. Se encuentra también desde América Central, incluyendo el Norte, Nordeste y Sudeste de Brasil (Vieira, 2010).

La *Annona muricata* L. es una planta que se cultiva en el Perú en las zonas agroecológicas de Chala y Yunga Baja, comprendidos entre 0 y 1000 m.s.n.m. (Chuqui, 2005).

La *Annona muricata* L. en el Perú es conocida desde la antigüedad y se encuentra representada en muchos ceramios exhumados de tumbas precolombinas en nuestra costa. En el Perú se encuentra, desde los años 1983 – 1999, su cultivo en la Costa era de un 47,17%, en la Sierra de 33.58%, y en la Selva de 19.25% de la Producción Nacional. También se observa en el cuadro que la producción ha tenido un notable crecimiento en los últimos años (Chuqui, 2005).

Algunas anonáceas (De preferencia) son de importancia económica, particularmente *Annona muricata* L.; De creciente industrialización e importancia desde el punto de vista alimentario y farmacológico. Más de 100 especies de árboles y arbustos distribuidos en las regiones tropicales y subtropicales del mundo agrupan el género *Annona* (Solís, 2010).

La *Annona muricata* L., es un árbol pequeño y ramificado, con hojas gruesas y siempre verdes, brillantes en la parte inferior, de amplia distribución, en el cual se han encontrado más de 50 acetogeninas con diferentes actividades biológicas presentes en corteza, hojas y frutos (Arroyo, 2005).

1.4.1.4. BIOAGRICULTURA:

La planta de guanábana requiere de suelos profundos, arenosos, con un buen drenaje y un pH entre 5.5 y 6.5 (suelos con alta saturación de aluminio y bajos niveles de calcio y fósforo). En cuanto a la fertilización, este es un cultivo exigente en nitrógeno y potasio.

La guanábana puede ser propagada por semilla o vegetativamente por injertos, empieza a producir al tercer año del trasplante, aunque la cosecha comercial se debe esperar al cuarto año en plantas francas y al tercer año en plantas injertadas.

Se debe plantar cuando la estación de lluvias está bien definida y en hoyos que hayan recibido las enmiendas y fertilizantes recomendados. Las plantas a instalar deben tener un año de injertadas y haber recibido la poda de formación. El distanciamiento a utilizar es de 7 x 7 m entre plantas, con una densidad de 204 plantas por hectárea. (Colachagua, 2014).

Esta planta es susceptible al ataque de plagas, entre las principales tenemos a la polilla de la guanábana, *Tecla ortygnus* (las larvas de esta mariposa se alimentan de flores y frutos muy pequeños, por lo que su combate debe hacerse apenas se inicia la floración). Además, son generalmente visibles el perforador del fruto *Cerconota annonella*; el perforador de la semilla *Bephrata* sp. y el taladrador del tallo *Cratosomus* sp. La enfermedad más importante de la guanábana en los climas de humedad relativa alta es la antracnosis, causada por el *Colletotrichum gloesporioides* Penz. (Rengifo, 2006).

1.4.1.5. ESTUDIO DE LA CICATRIZACIÓN:

Una herida es una solución de la continuidad normal de los tejidos. El hombre, en su evolución filogenética, perdió su capacidad de regenerar miembros o tejidos. Hoy sólo conserva la posibilidad de reparar las lesiones de sus tejidos con un proceso de cicatrización, es decir con un tejido similar aunque no idéntico. Sin esta capacidad de autorreparación el medio interno saldría al exterior permanentemente, lo cual sería

incompatible con la vida. La cicatrización cutánea es un proceso reparativo complejo que conduce a la regeneración del epitelio y el reemplazo de la dermis por un tejido fibroso constituido por colágeno con características diferentes al normal. Las nuevas fibras son más cortas y desorganizadas, por lo que la cicatriz nunca presenta la fuerza tensora de la piel ilesa (Goodman y Gilman, 1996).

Las secuencias en el proceso de cicatrización son:

1. Limpieza del foco traumático y acumulación de material para la reparación (Fase inflamatoria) tenemos la respuesta vascular y los movimientos celulares.

A) La respuesta vascular es la respuesta inmediata en el área afectada, es una vasoconstricción transitoria (de 5 a 10 min) producida en gran parte, por la liberación de tromboxano (una prostaglandina) por las plaquetas para conseguir la hemostasia seguida de una vasodilatación activa. B) Movimientos celulares, coincidiendo con la vasodilatación y atraídos por mediadores enzimáticos locales, se producen los fenómenos de marginación, adherencia y diapédesis de los granulocitos neutrófilos, que son las primeras células que aparecen en el foco traumático. Los leucocitos, atraídos químicamente (quimiotaxis) comienzan la lisis y la acción fagocitaria de los gérmenes contaminantes. Los movimientos celulares en el foco traumático terminan con la aparición del fibroblasto,

que se detecta ya en las primeras 24 horas, alcanzando un número muy elevado a las 72 horas.

2. Formación del colágeno y aumento de la resistencia a la separación de los bordes de la herida (fase de reparación). Comienza al tercer día mientras va cediendo el proceso inflamatorio, siendo claramente manifiesto a partir del quinto día.

3. Epitelización de la herida, la producción del colágeno requiere el aporte de aminoácidos y para la cohesión entre las fibras de colágeno, la sustancia fundamental. En las heridas cerradas, la proliferación a partir de los queratinocitos del epitelio se inicia rápidamente y en 48 horas ha rellenado el mínimo defecto existente entre ambos bordes, cuando todavía no se ha formado colágeno en el seno de la herida (Robberrrs, 1996).

1.5. HIPÓTESIS Y VERIFICACIÓN DE LAS VARIABLES.

- El extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* L. (Guanábana) al ser administrado por vía tópica posee efecto cicatrizante al ser aplicado sobre heridas superficiales inducidas en *Mus musculus var. albinus*.
- VARIABLES

Variable dependiente:

- Efecto cicatrizante.

Variable independiente:

- Extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* L.

1.6. OBJETIVOS.

Objetivo general:

- Determinar el efecto cicatrizante del extracto de las hojas de *Annona muricata* L. sobre heridas superficiales **en** *Mus musculus var. albinus*.

Objetivo específico:

- 1) Obtener el extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* L.
- 2) Realizar el estudio fitoquímico cualitativo del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* L.
- 3) Evaluar el efecto cicatrizante del extracto etanólico de *Annona muricata* L.

II. METODOLOGÍA.

2.1. TIPO Y DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN.

El diseño del estudio es de tipo analítico-experimental, aleatorizado, completo, pre- clínico *in vivo* y sigue el siguiente diseño:

Grupos	tratamientos
<i>Grupo I</i>	corte + SSF 2 mL/kg
<i>Grupo II</i>	corte + Sangre de grado 5 %
<i>Grupo III</i>	corte + Cicatricure Gel
<i>Grupo IV</i>	Corte + Extracto 10%
<i>Grupo V</i>	Corte + Extracto 50%
<i>Grupo VI</i>	Corte + Extracto 100%

2.2. POBLACIÓN Y MUESTRA.

Población:

P1: La población fue constituida por:

- *Mus musculus var. albinos.*

P2: La población vegetal en estudio estuvo constituida por la especie vegetal:

- *Annona muricata L.*

Muestra:

M1: Las muestras estuvieron constituidas por:

- *Mus musculus var. albinos.*

M2: La muestra estuvo constituida por el extracto etanólico de:

- *Annona muricata L.* “Guanábana”, del Distrito Chimbote.

2.3. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.

2.3.1. Técnicas e instrumentos de investigación.

2.3.1.1. Recolección, selección y secado de las muestras vegetales (plantas completas): Obtención del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata L* y estudio fitoquímico.

2.3.1.1.1. Colecta de la planta.

Las plantas de *Annona muricata L.* fueron recolectadas durante las mañanas, en el centro poblado de Rinconada, Departamento de Ancash, Provincia del

Santa, Distrito Chimbote, durante el mes de abril del 2018, durante las mañanas.

Latitud: -8.89694

Longitud: -78.5647

Clima: Cálido - Seco

Límites:

- Norte: km 24 Vinzos.
- Sur: El castillo.
- Oeste: Rio Santa.
- Este: Canal Chimbote.

2.3.1.1.2. Obtención del extracto (CYTED 1995).

Para la preparación del extracto etanólico, las hojas de *Annona muricata* L. fueron lavadas y sometidas a deshidratación, a 40 °C en horno con aire circulante, luego, el material seco fue triturado en un molino eléctrico de cuchillas, hasta obtener un polvo fino, y fue llevado a maceración con etanol de 96° a temperatura ambiente. Luego de 7 días se filtró. Dicho filtrado se deseco a 40°C en estufa hasta peso constante. El residuo seco, fue denominado extracto etanólico, el cuál fue conservado en frasco de color ámbar a 4°C, luego este residuo sirvió para realizar el estudio fitoquímico y ensayo farmacológico, previa reconstitución con agua destilada, utilizando

como agente tensoactivo polisorbato de sodio 80° al 3% de la solución a preparar.

2.3.1.1.3. Estudio fitoquímico (Lock de Ugaz, 1994).

El estudio fitoquímico del extracto etanólico de *Annona muricata* L. (guanábana) se realizó en los ambientes de laboratorio de farmacología de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad San Pedro, al cual se le practico las reacciones de Gelatina, tricloruro férrico, Dragendorff, Molisch, NaOH 10%, Vainillin sulfúrico, Lieberman - Buchard, Shinoda y Ninhidrina; Para determinar cualitativamente la presencia y cantidad de metabolitos secundarios presentes en el extracto, utilizando la siguiente codificación: Ausencia (-), Poca cantidad (+), Regular Cantidad (++), Abundante cantidad (+++).

2.3.2. Determinación del efecto cicatrizante del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* L.

2.3.2.1. Inducción experimental de las heridas superficiales para evaluar el efecto cicatrizante del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* L. en ratones albinos (Villegas, 1997, Howes, 1929).

Se utilizaron 36 ratones albinos machos de la raza *Mus musculus* cepa Balb/C de 2-3 meses de edad con un peso promedio de 25 ± 5 gramos, provenientes del bioterio del Instituto Nacional de Salud de Lima, alojados en jaulas

individuales durante 21 días. Los animales se mantuvieron con libre acceso al agua y alimento. Todos los animales fueron depilados 24h antes de realizar dos cortes en la región escapular, en un área de 1cm², que incluyo piel y tejido celular subcutáneo.

Procedimiento experimental: En la primera fase de la investigación, se aplicó diariamente, por un período de 07 días, el extracto disuelto a las concentraciones de 10, 50 y 100% en las heridas abiertas y bajo el efecto anestésico, con 50 mg/kg de pentobarbital sódico en grupos de seis animales para cada concentración, y se calculó el porcentaje de eficacia de cicatrización usando la fórmula:

$$\text{Porcentaje de eficacia de cicatrización} = \left(\frac{\text{Gramos para abrir cicatriz}}{\text{gramos para abrir piel intacta}} \right) \times 100$$

Se observó el tiempo de aparición, caída de la costra y cicatrización del área durante todo el período experimental. Al finalizar el tratamiento de las dos fases, los animales fueron sacrificados por sobredosis de pentobarbital sódico por vía intraperitoneal, e inmediatamente se realizarán las pruebas de resistencia a la tensión planteada por Vaisberg y Howes E. En la tercera fase se comparó el efecto cicatrizante de las formulaciones con mejores resultados frente a placebo (solución suero fisiológico) y a los fármacos patrón (cicatricure gel y sangre de grados), utilizando la prueba de resistencia a la tensión (gramos de arena necesarios para abrir una herida) y un posterior estudio histológico con cortes longitudinales de la piel regenerada. Las

muestras de tejido con cicatrices experimentales serán obtenidas inmediatamente a la muerte de los animales, seccionando un área de 1cm² que incluirá además parte de la piel sana tomada como referencia para las observaciones histológicas. Dichos fragmentos serán fijados en formol neutro al 10% y procesados para su inclusión en parafina. Las coloraciones se realizarán con hematoxilina -eosina para su observación y evaluación histológica.

2.3.2.2. Procesamiento y análisis de la información.

Los datos fueron referidos mediante la estadística descriptiva expresada en valores medios \pm error estándar (EA), límites inferior y superior a un intervalo de confianza del 95%, e inferencialmente por el análisis de varianza y de múltiples comparaciones de Duncan. Los valores fueron significativos con una $p < 0,05$; se hizo uso del programa estadístico SPSS versión 13, del año 2008.

III. RESULTADOS.

Tabla 1.- Marcha fitoquímica del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* L.

Marcha fitoquímica del extracto etanólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> L. (Guanábana).		
Metabolito Secundario	Reacción de identificación	Cantidad
Taninos	Gelatina	++
Aminoácidos libres	Ninhidrina	(-)
Flavonoides	Shinoda	++
Alcaloides	Dragendorff	+
Compuestos fenólicos	Tricloruro férrico	++
Esteroides triterpénicos	Lieberman	+
Glicósidos	Vainillin Sulfurico	+
Leyenda: (+++) = Abundante cantidad; (++)=Regular cantidad o positivo, (+)= Poca cantidad o trazas; (-)=Ausencia.		

Tabla 2.- Valores medios obtenidos al evaluar el efecto del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* L. Tras aplicar el test de cicatrización.

Prueba de tensión	
Tratamientos	Peso de prueba de tensión (g)
SSF 2 mL/kg	44.83
Sangre de grado 5 %	111.17
Cicatricure Gel	75.17
Annona 10 %	73.67
Annona 50 %	83.50
Annona 100 %	92.40

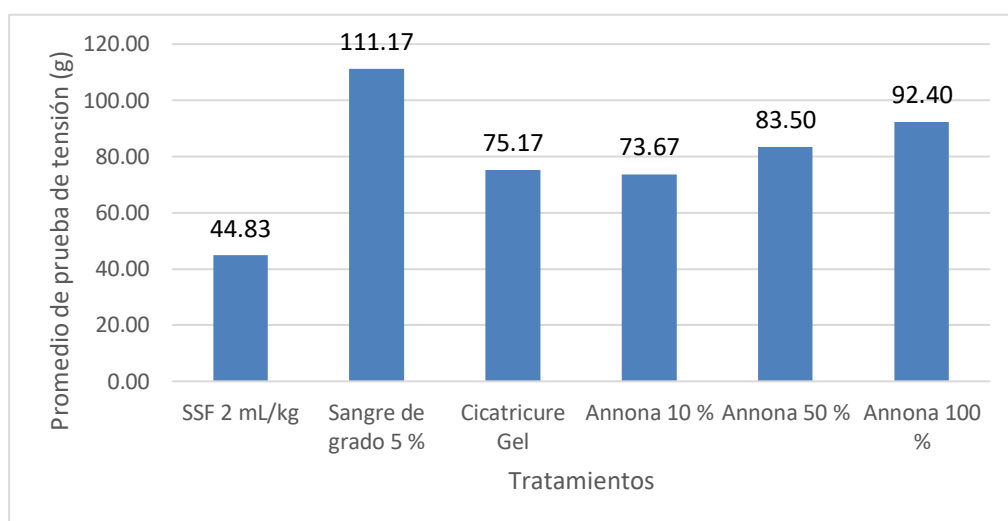


Figura 1.- Valores medios obtenidos al evaluar el efecto del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* L. Tras aplicar el test de cicatrización.

Tabla 3.- Porcentajes de cicatrización al evaluar el efecto del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* L.

Tratamientos	% Cicatrización en relación al control SSF
SSF 2 mL/kg	0.00
Sangre de grado 5 %	148.96
Cicatricure Gel	68.66
Annona 10 %	65.31
Annona 50 %	87.25
Annona 100 %	107.10

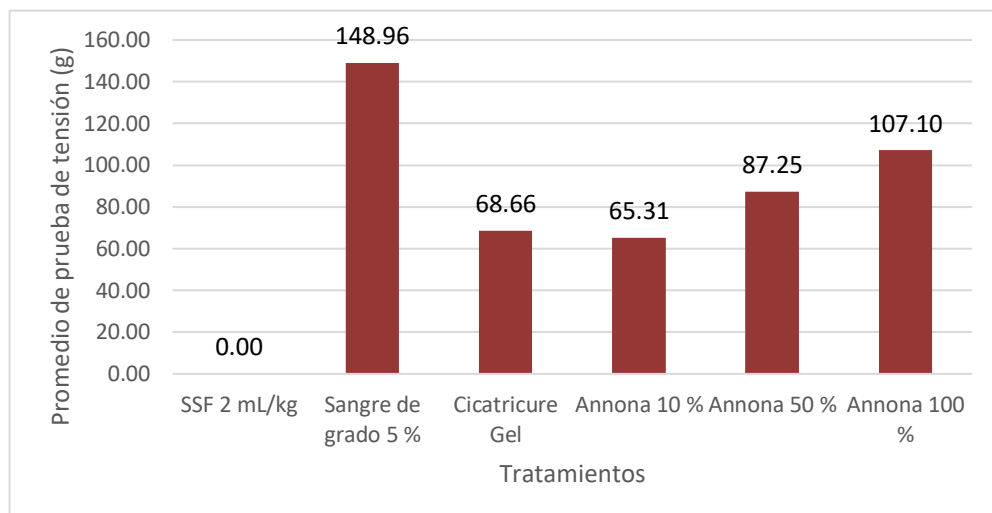


Figura 2.- Porcentajes de cicatrización al evaluar el efecto del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* L.

IV. DISCUSSION.

El estudio fitoquímico realizado al extracto etanólico de las de *Annona muricata* L; ha evidenciado abundantes flavonoides, compuestos fenólicos y taninos, y en ausencia los aminoácidos, y poca cantidad de esteroides triterpenos, Glicósidos y Alcaloides (tabla N° 01).

Referente a la prueba del efecto del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* L. Tras aplicar el test de cicatrización, se pudo apreciar que la aplicación a una concentración del 100% se obtiene una mejor cicatrización a diferencia del cicatricure en gel (tabla N° 02).

En la figura N°01, se ilustra los valores obtenidos del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* L. Tras aplicar el test de cicatrización. Se puede observar que las concentraciones al 50 y 100% sobrepasan a los otros tratamientos, a diferencia de sangre de grado que contiene un valor más alto.

Al ver los porcentajes de cicatrización al evaluar el efecto del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* L, se puede notar que las dos concentraciones al 50 y 100 % sobrepasan a cicatricure en gel, a diferencia de sangre de grado que muestra un porcentaje más alto (tabla N° 03).

En la figura N°02, se ilustra los porcentajes de cicatrización al evaluar el efecto del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* L, donde

cicatricure gel suele ser más efectivo que la concentración al 10 %, pero no sobrepasa a las demás concentraciones.

Según el screening fitoquímico, *Annona muricata* L. contiene carbohidratos, compuestos polifenólicos, flavonoides, esteroides libres, saponinas y alcaloides.

Martino y Giraldo, en sus estudios, relacionan la presencia de flavonoides con la actividad antiinflamatoria por inhibición de la peroxidación del ácido araquidónico, determinando así, que los flavonoides, son los posibles responsables de la actividad antiinflamatoria. (Martino, 2000; Giraldo, 2003).

Cicatricure® Gel, ayuda a disminuir la inflamación y desvanecer gradualmente las cicatrices, ya sean normales, hipertróficas y queloides.

De entre los principales principios activos de Cicatricure® Gel se encuentran los de origen natural como son: Extracto de cebolla (*Allium cepa*), Extracto de manzanilla (*Chamomilla recutita*), Extracto de tomillo (*Thymus vulgaris*), Extracto de Concha nácar, Extracto de nogal (*Juglans regia*), Extracto de sábila (*Aloe vera*), Extracto de centella asiática y Aceite esencial de bergamota (*Citrus aurantium bergamia*).

El proceso de cicatrización es la forma en que el cuerpo sana y reemplaza la piel perdida o dañada. Una cicatriz está compuesta normalmente de tejido fibroso. Las cicatrices pueden ser resultado de infecciones, cirugía, lesiones o inflamación del tejido y aparecer en cualquier parte del cuerpo; su

composición varía por lo que la apariencia puede ser plana, abultada, hundida o coloreada, como también puede ocurrir que duelan o provoquen picazón. El aspecto final de una cicatriz depende de muchos factores, incluido el tipo de piel, localización en el cuerpo, la dirección de la herida y la edad.

La acción individual y en conjunto de cada uno de sus principios activos de Cicatricure® Gel da como resultado el desvanecimiento gradual de las cicatrices, estimulando la regeneración de la piel mejorando su textura y color.

La Sangre de Drago es un látex de sabor astringente, está compuesta por sustancias diversas como heterósidos, tanino, ácido benzoico, celulosa y resina dragocoresina compuesta por ésteres de alcohol resínicos, ácido benzilacético y alcaloides, entre los que resalta la taspina. (Risco, 2005; Corrales, 2015)

Risco y Corrales, mencionan que una de las actividades más conocidas del látex de la "Sangre de Drago", y de las primeras estudiadas, es la cicatrizante, y en ella está involucrado más de un principio activo, también postulan que la sangre de grado estimula la contracción de la herida, favorece la formación de la cicatriz y regenera rápidamente la piel ayudando a la formación de colágeno, a estas acciones contribuye la taspina, la 3' - 4 - O - Dimetil - cedrusina y los polifenoles (catequinas y proantocianidinas), habiéndose

demostrado que el látex total es hasta cuatro veces más efectivo como cicatrizante que sus componentes aislados. (Risco, 2005; Corrales, 2015)

La tarpina promueve las fases tempranas de la curación de una herida y su mecanismo de acción podría estar relacionado con la estimulación de la quimiotaxis de fibroblastos; sin embargo, no se ha encontrado actividad en ensayos específicos sobre la quimiotaxis de macrófagos, ni sobre la estimulación de neutrófilos o de la proliferación de fibroblastos. (Risco, 2005; Corrales, 2015)

V. CONCLUSIONES.

Se logró obtener el extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata*.

El estudio fitoquímico cualitativo realizado al extracto etanólico de las de *Annona muricata* L; ha evidenciado abundantes flavonoides, compuestos fenólicos y taninos, en ausencia aminoácidos, y poca cantidad de esteroides triterpenos, Glicósidos y Alcaloides.

Se logró evaluar el efecto cicatrizante del extracto etanólico de *Annona muricata* L. encontrándose mejor efecto con una concentración al 100%.

En condiciones experimentales se ha demostrado que el extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* L. (Guanábana) al ser administrado por vía tópica posee efecto cicatrizante al ser aplicado sobre heridas superficiales inducidas en *Mus musculus var. albinus*.

VI. RECOMENDACIONES.

Los resultados obtenidos en el presente estudio, estimulan a continuar las investigaciones sobre diversos aspectos todavía desconocidos: actividad cicatrizante de los componentes de la *Annona muricata* L. (Guanábana), y un posterior estudio histológico con cortes longitudinales de la piel regenerada.

Estudios de esta naturaleza permitirán mejorar el tratamiento, estandarizarlo con el soporte de evidencia científica y difundirlo; experimentando en adaptarlos a preparados magistrales como geles, cremas o ungüentos, haciendo posible con ello ampliar la cantidad de beneficiados, con un producto de bajo costo, sin efectos adversos, elevada efectividad y ampliamente difundido en nuestro territorio ancashino.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

- Álvarez, C., Simó, Y. L., Ortiz T. M., Mañón, D. (1999). Plantas medicinales dominicanas. May - Jun; 21(3):87.
- Amaya, j.; Roldan, h. (1990). Algunos aspectos sobre el cultivo de la guanábana (*annona muricata l.*) en Colombia. *Apuntes de campo. mecanografiada. 50p.*
- Arroyo, J., Prashad, M., Vásquez, Y., Li, E., Tomas, G. (2005). Actividad citotóxica *in vitro* de la mezcla de *Annona muricata* y *krameria lappacea* sobre células cancerosas de glándula mamaria, pulmón y sistema nervioso central. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública* .22 (4): 248.
- Chuqui, D., Saúl, R. (2005). Efecto de la Presión de Trabajo y Coadyuvante de Secado en la Calidad de la Guanábana (*Annona muricata*). Lima-Perú.
- Colachagua, D. A. Bach. (2014), Florentino Contreras W. W. Bach; “Obtención De Dextrano A Diferentes Concentraciones De Residuos De La Guanábana (*Annona Muricata*)” Tarma – Perú. 2014.
- Corrales L, Castillo A, Melo A. (2015). Evaluación del potencial antibacterial in vitro de *Croton lechleri* frente a aislamientos bacterianos de pacientes con úlceras cutáneas. *NOVA* 2013; 11(19). Citado 27 de Abril 2015. Disponible en:

http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1794-24702013000100006

Cronquist, A. (1988). *The evolution and classification of flowering plants*. New York: The New York Botanical Garden, 555.

CYTED. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. Proyecto X-I. (1995). Búsqueda de principios bioactivos de plantas de la región. Manual de técnicas de investigación; 220.

Goodman y Gilman. (1996). *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. Editorial Mc Graw Hill Interamericana, 9na Edición pp. 1371-1387. 1996.

Giraldo, L. (2003). Actividad antinitrosativa y antiinflamatoria de los flavonoides de las hojas de *Uncaria tomentosa* Willd D.C. (Uña de gato). *Revista Sociedad Química del Perú* 2003; 4(69): 229-42.

Guillermo, R. (2002). "Comprobación del Efecto Cicatrizante de *Peperomia Scutellaefolia* R. et P., Aspectos Etnofarmacológicos, Botánicos Y Estudio Químico". Lima-Perú.

Howes, E., Sooy, J., Harvey, S. (1929). The healing of wound as determined by their tensile strength. *J.A.M.A.* 42(5).

Li, E. (2010). Estado del Arte del Sector de Plantas Medicinales en Perú.

PRODUCE. Disponible en:

http://www.unido.org/fileadmin/import/69934_PERU_Informe_final_plantas_medicinales_2vf.pdf.

Lock de Ugaz, O. (1994). *Investigación Fitoquímica. Métodos de estudios de productos naturales*. 2° Edición. Lima: Fondo Editorial PUCP.

Martino, V. (2000). Los flavonoides como promisorios agentes preventivos y terapéuticos. *Acta Farm Bonaerense* 2000; 19(4): 303-8.

Nayak, B. S., Sandiford, S., Maxwell, A. (2007). Evaluación de la herida actividad cicatrizante del extracto etanolito de *Morinda citrifolia* hoja, basada en la evidencia Complementaria y Medicina alternativa, pp. 78: 1-6.

Padmaa, M., Paarak, H., Chansouria, J.P., Khosa R.L. (2009). Actividad del extracto de *Annona muricata* L. en curación de Heridas. *Journal of Pharmacy Research*. 2(3):404.

Pérez, M., Cid, M., Méndez, R., Rodríguez, M., Arboláez, M. (2007). Proposal e{ guideline for c/inica/ tria/ protocols with herbal drugs. *J Biomed*, citado I Ene 2007, Disponible en: <http://biomed.uninet.edu/2007/n1/perez.html>.

Ramírez, R., Dagnino, B. (2006). Curación de heridas. Antiguos conceptos para aplicar y entender su Manejo avanzado. *Curación de heridas*. Pp.93.

Rengifo, E. (2006). Las ramas floridas del bosque. *Memorias* 2006, 42-44.

- Risco, E., Vila, R., Henriques, A., Cañigüeral, S. Bases Químicas y Farmacológicas de la Utilización de Sangre de Drago. Revista de Fitoterapia 2005; 5(2):101-114. Citado 30 de Abril 2015. Disponible en: <http://www.fitoterapia.net/revista/pdf/Croton>.
- Robberrrs, J. E.; Speedie, M.K.; Tyler, V. E.; Pharmacognosy and Pharmacobiotechnology, Wilkins, W. Ediciones. New-York (1650 p). pp 850-865. 1996.
- Salem, C., Pérez, P. J., Pérez, L. E., Uherek, P.F. (2000). Heridas Conceptos generales, 14:90-99.
- Silva, D.H et al. (1995). Plantas medicinales de la Amazonia Peruana Lima: IPSSIMET pp. 256. 1995.
- Solís, J. A., Amador, H. C., Hernández, M. R., Durán de Bazúa, M. C. (2010). Caracterización fisicoquímica y comportamiento térmico del aceite de "almendra" de guanábana (*Annona muricata*, L) .Grasas y Aceites. 2010 Ene-Mar, 61 (1): 58.
- Vieira, O., Glauciemar, V., R. G Jose, Hitomi, Y.C., Alves, M. (2010). Antinociceptive and Anti-Inflammatory Activities of the Ethanol Extract of *Annona muricata* L. Leaves in Animal Models. Molecular Science. 2010: 2068.
- Villegas, L., F., Fernández, I. D., Maldonado, H., Torres R., Zavaleta, A., Vaisverg, A. (1997). Evaluation of the woundhealing activity of

selected traditional medicinal plants from Perú. J. Ethnopharmacol.
55(3):193-200.

[https://es.scribd.com/doc/58899781/Genomma-Lab-Cicatricure-Ficha-](https://es.scribd.com/doc/58899781/Genomma-Lab-Cicatricure-Ficha-Tecnica)
Tecnica

ANEXOS Y APÉNDICES

Anexo 01.- (valores obtenidos al evaluar el efecto cicatrizante del extracto de las hojas de *Annona muricata* L. sobre heridas superficiales en *Mus musculus* var. *albinus*.)

Cicatrización Annona		
N°	TRATAMIENTO	Tensión
1	SSF 2 mL/kg	50
2	SSF 2 mL/kg	46
3	SSF 2 mL/kg	38
4	SSF 2 mL/kg	52
5	SSF 2 mL/kg	40
6	SSF 2 mL/kg	43
7	Sangre de grado 5 %	111
8	Sangre de grado 5 %	107
9	Sangre de grado 5 %	119
10	Sangre de grado 5 %	102
11	Sangre de grado 5 %	98
12	Sangre de grado 5 %	130
13	Cicatricure Gel	75
14	Cicatricure Gel	75
15	Cicatricure Gel	73
16	Cicatricure Gel	84
17	Cicatricure Gel	76
18	Cicatricure Gel	68
19	Annona 10 %	71
20	Annona 10 %	61
21	Annona 10 %	74
22	Annona 10 %	78
23	Annona 10 %	81
24	Annona 10 %	77
25	Annona 50 %	81
26	Annona 50 %	85
27	Annona 50 %	73
28	Annona 50 %	95

29	Annona 50 %	78
30	Annona 50 %	89
31	Annona 100 %	95
32	Annona 100 %	105
33	Annona 100 %	99
34	Annona 100 %	84
35	Annona 100 %	91
36	Annona 100 %	83

Anexo 02.- Estadística descriptiva de los datos obtenidos al evaluar el efecto cicatrizante del extracto de las hojas de *Annona muricata* L. sobre heridas superficiales en *Mus musculus var. albinus*.

Estadística descriptiva						
Estadística descriptiva	SSF 2 mL/kg	Sangre de grado 5 %	Cicatricur e Gel	Annona 10 %	Annona 50 %	Annona 100 %
Media	44.8333333	111.166667	75.166667	73.666667	83.5	92.8333333
Error típico	2.2570876	4.79872668	2.1200105	2.8944391	3.22231801	3.50634346
Mediana	44.5	109	75	75.5	83	93
Moda	#N/A	#N/A	75	#N/A	#N/A	#N/A
Desviación estándar	5.52871293	11.7544318	5.1929439	7.0898989	7.8930349	8.58875233
Varianza de la muestra	30.5666667	138.166667	26.966667	50.266667	62.3	73.7666667
Curtosis	-1.6874641	-0.1267695	2.171568	1.8287084	-0.5654048	-1.25491259
Coeficiente de asimetría	0.1232783	0.74545197	0.6674456	-1.295039	0.21413926	0.18914175
Rango	14	32	16	20	22	22
Mínimo	38	98	68	61	73	83
Máximo	52	130	84	81	95	105
Suma	269	667	451	442	501	557
Cuenta	6	6	6	6	6	6
Mayor (1)	52	130	84	81	95	105
Menor(1)	38	98	68	61	73	83
Nivel de confianza(95.0%)	5.80202839	12.3355196	5.4496604	7.4403926	8.28323214	9.0133428

Anexo 03.- Análisis de varianza ANOVA de los datos obtenidos al evaluar el efecto cicatrizante del extracto de las hojas de *Annona muricata* L. sobre heridas superficiales en *Mus musculus var. albinus*.

Análisis de varianza de un factor				
RESUMEN				
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
SSF 2 mL/kg	6	269	44.8333333	30.5666667
Sangre de grado 5 %	6	667	111.166667	138.166667
Cicatricure Gel	6	451	75.1666667	26.9666667
Annona 10 %	6	442	73.6666667	50.2666667
Annona 50 %	6	501	83.5	62.3
Annona 100 %	6	557	92.8333333	73.7666667

ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	14689.4722	5	2937.89444	46.1409127	3.41E-13	2.53355455
Dentro de lo	1910.16667	30	63.6722222			
Total	16599.6389	35				

Anexo 04.- Constancia N° 02-2013-2013-HUT. (Determinación taxonómica de un (01) espécimen vegetal: *Annona muricata* L.

Anexo 05.- Fotografías de proceso de recolección, selección, obtención del extracto de las hojas de *Annona muricata* L. sobre heridas superficiales en *Mus musculus var. albinus*.

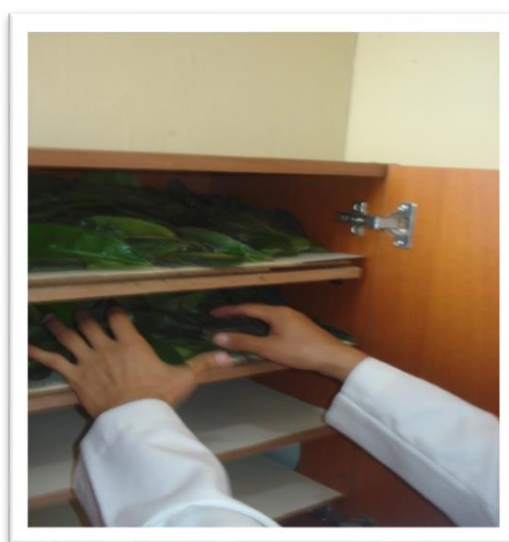
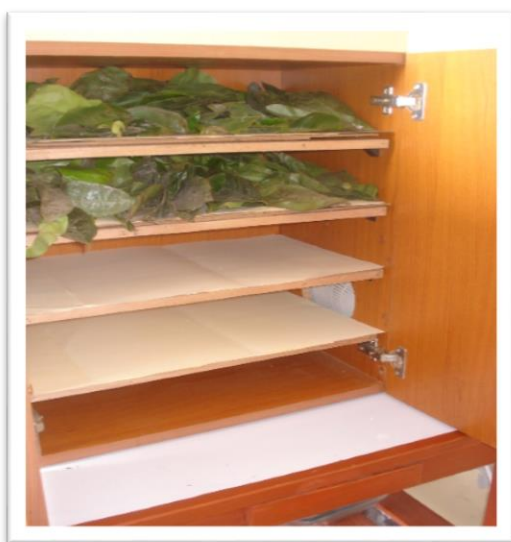
1.- Recolección.



2.- Selección.



3.- Secado.





4.- Filtración.



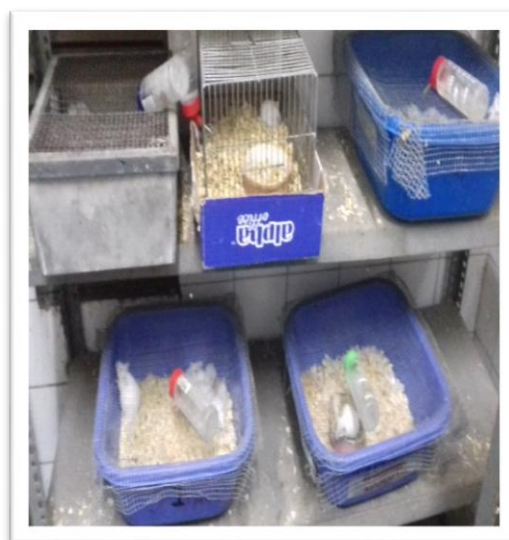
5.- Maceración.



6.- Secado.



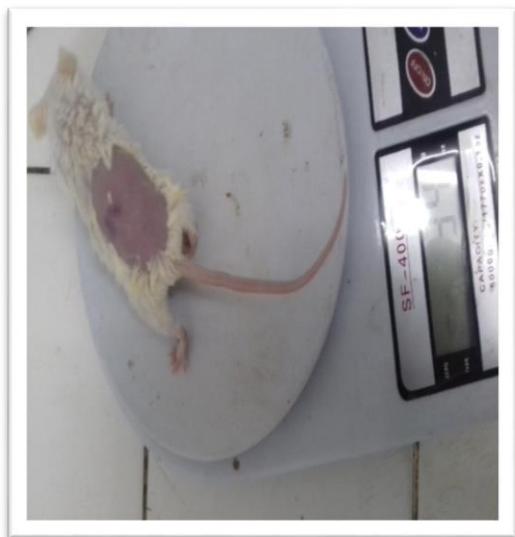
7.- Ambientación de ratones.



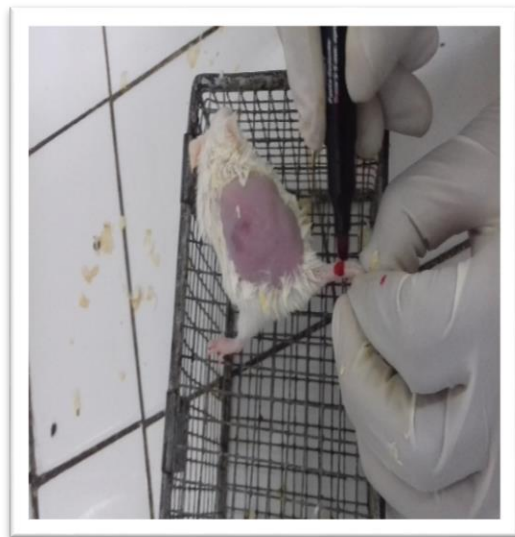
8.- Depilación.



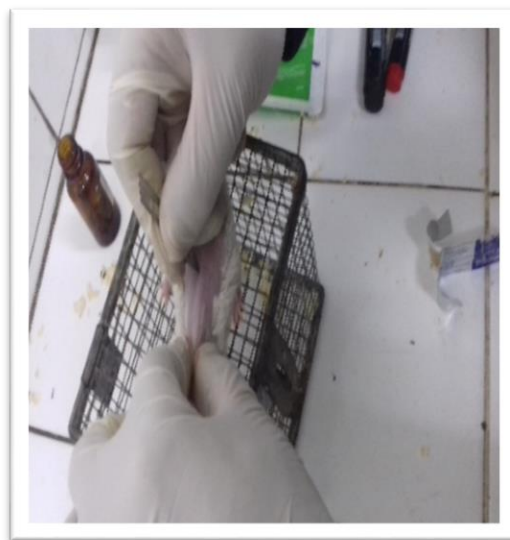
8.-Pesado.



9.- Marcado



10.-Corte.



11. Tratamiento.



12. Sedación.



13.- Tensión.

